

JP 00 / 8631 日

09 / 890688

本 国 特 許 庁
PATENT OFFICE
JAPANESE GOVERNMENT

REC'D 05 FEB 2001

VAPO

PCT

別紙添付の書類に記載されている事項は下記の出願書類に記載されている事項と同一であることを証明する。

This is to certify that the annexed is a true copy of the following application as filed with this Office.

出 願 年 月 日

Date of Application:

1999年12月 6日

出 願 番 号

Application Number:

平成11年特許願第346864号

出 願 人

Applicant (s):

科学技術振興事業団

PRIORITY

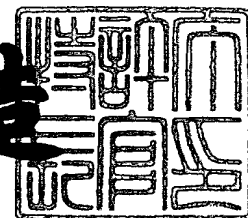
DOCUMENT

SUBMITTED OR TRANSMITTED IN
COMPLIANCE WITH RULE 17.1(a) OR (b)

2001年 1月19日

特許庁長官
Commissioner,
Patent Office

及 川 耕 造



出証番号 出証特2000-3113198

【書類名】 特許願
【整理番号】 NP99461-YS
【提出日】 平成11年12月 6日
【あて先】 特許庁長官 殿
【国際特許分類】 C07H 21/00
C07K 14/435
【発明の名称】 ヒト蛋白質と c D N A [3]
【請求項の数】 7

【発明者】
【住所又は居所】 神奈川県相模原市若松 3 - 4 6 - 5 0
【氏名】 加藤 誠志
【発明者】
【住所又は居所】 神奈川県相模原市西大沼 2 - 5 2 - 1 2
グリーンヴィラ 3 0 1
【氏名】 佐伯 美帆呂

【特許出願人】
【識別番号】 396020800
【氏名又は名称】 科学技術振興事業団

【代理人】
【識別番号】 100093230
【弁理士】
【氏名又は名称】 西澤 利夫
【電話番号】 03-5454-7191

【手数料の表示】
【予納台帳番号】 009911
【納付金額】 21,000円

【提出物件の目録】
【物件名】 明細書 1
【物件名】 図面 1

【物件名】	要約書	1
【プルーフの要否】	要	

【書類名】 明細書

【発明の名称】 ヒト蛋白質と cDNA [3]

【特許請求の範囲】

【請求項 1】 配列番号 1 から配列番号 10 のいずれかのアミノ酸配列を有する精製ヒト蛋白質。

【請求項 2】 請求項 1 の蛋白質をコードする DNA 断片。

【請求項 3】 請求項 1 の蛋白質をコードするヒト cDNA であって、配列番号 11 から配列番号 20 のいずれかの塩基配列を有する DNA 断片。

【請求項 4】 配列番号 21 から配列番号 30 のいずれかの塩基配列からなる請求項 3 の DNA 断片。

【請求項 5】 請求項 2 から 4 のいずれかの DNA 断片をインビトロ翻訳あるいは宿主細胞内で発現しうる発現ベクター。

【請求項 6】 請求項 5 の発現ベクターによる形質転換体であって、請求項 1 の蛋白質を生産しうる形質転換細胞。

【請求項 7】 請求項 1 記載の蛋白質に対する抗体。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】

この出願の発明は、精製ヒト蛋白質、この蛋白質をコードしている DNA 断片、この DNA 断片の発現ベクター、この発現ベクターにより形質転換した各種の細胞、およびこの蛋白質に対する抗体に関するものである。この発明の蛋白質は、医薬品として、あるいはこの蛋白質に対する抗体を作製するための抗原として用いることができる。また、この蛋白質は、細胞内蛋白質ネットワークを解明するための研究試薬として、あるいは低分子医薬と結合する蛋白質をスクリーニングするための蛋白質源として用いることができる。この発明のヒト cDNA は、遺伝子診断用プローブや遺伝子治療用遺伝子源として用いることができる。また、この cDNA がコードしている蛋白質を大量生産するための遺伝子源として用いることができる。これらの DNA をインビトロ翻訳あるいは宿主細胞内で発現しうる発現ベクターは、この発明の蛋白質をインビトロあるいは各種の宿主細

胞内で生産するのに用いることができる。これらの遺伝子を導入して蛋白質を過剰発現させた細胞は、対応するレセプターやリガンドの検出、新しい低分子医薬のスクリーニングなどに利用できる。この発明の蛋白質に対する抗体は、蛋白質を精製するための手段、あるいは細胞内における蛋白質の発現量や局在部位を調べるのに用いられる。

【0002】

【従来の技術】

ヒト蛋白質は、我々の身体を構成している細胞の基本要素である。その中には、（１）細胞の形態を維持したり、細胞内の物質輸送や細胞運動に関わっている細胞骨格蛋白質、（２）細胞内の物質代謝に関与する代謝酵素、（３）エネルギー産生に関わる蛋白質、（４）細胞の増殖・分裂に関わる情報伝達蛋白質、（５）蛋白質の合成に関わる翻訳関連蛋白質、（６）蛋白質の分解に関わるプロテアーゼ関連蛋白質、（７）ゲノムの複製に関与する蛋白質、（８）遺伝子の転写に関与する転写因子、（９）mRNAのスプライシングに関与する核蛋白質などが含まれる。これらの蛋白質は、ヒト細胞の働きを解明する上で重要であるのみならず、医薬品の開発においても有用である。これまで知られている低分子化合物医薬の多くは、細胞内のある特定の蛋白質と結合し、その蛋白質の働きを増強したり、阻止したりすることによって、その薬効を表す。したがって、一揃いのヒト蛋白質を持っていれば、これらの低分子医薬をスクリーニングする際の有力な道具となる。

【0003】

従来、ヒト蛋白質を得るには、ヒト組織や培養細胞をすりつぶした後、各種の分離法を組み合わせることで単一の蛋白質を精製する方法がとられてきた。これまで知られている蛋白質のように、含有量が高く、活性が分かっているものは、従来の方法で容易に単離精製できるが、まだ解析されていない蛋白質の多くは含量が低く、かつその性質によっては単離するのが困難である。また、ヒト組織の多くは入手困難である。したがって、従来のように蛋白質を単離精製する方法では、ヒト蛋白質を全てそろえることは不可能に近い。

【0004】

一方、ヒト蛋白質の構造情報は、ヒトゲノムDNAに書かれているので、この情報をすべて読み取れば、全ヒト蛋白質の一次構造を推定することができる。ヒトゲノムプロジェクトの目的の一つはここにある。ただ、ゲノム解読の結果得られるのは、DNA配列情報だけであり、蛋白質そのものは得られない。細胞内では、ゲノムの情報はまずmRNAに転写され、mRNAの配列情報を翻訳して蛋白質が合成される。したがって、このmRNAを鋳型にして作製したcDNAが合成できれば、このcDNAを用いて対応する蛋白質も合成することが可能となる。そこで、各種細胞から単離したmRNAを鋳型にして、cDNAを合成し、cDNAの部分塩基配列を決定するいわゆるESTプロジェクトが進行している。

【0005】

【発明が解決しようとする課題】

蛋白質の取得を目的とする場合、cDNAに要求される必須要件は、蛋白質の翻訳領域を全て含んでいること、いわゆる完全長cDNAであることである。しかしながら、従来法で合成したcDNAは、完全長である割合は低く、得られたものが完全長かどうかを判定することも困難である。すなわち、ESTとして知られているものの多くは蛋白質の翻訳領域の一部のみ含んでいるcDNA断片である。

【0006】

これに対して、この出願の発明者らは、独自の完全長cDNA合成技術を完成させている(Kato, S. et al., Gene 150:243-250, 1994)。そしてこの技術で合成したヒト完全長cDNAクローンを解析することにより、ヒト蛋白質を完全長cDNAの形で取得することが可能となった。この技術を用いてヒト完全長cDNAをすべてクローン化し、ヒト蛋白質バンクを作製することが望まれている。

【0007】

また、これまでのヒト疾患に関する研究の結果、ほとんどの病気は何らかの形で遺伝子に異常があるために引き起こされることが明らかになりつつある。これらの病気を治療するためには、異常な遺伝子の代わりに正常な遺伝子を導入する

遺伝子治療が有望視されている。この際も、ヒトの完全長 cDNA は、遺伝子治療用の遺伝子源として用いることができる。

【0008】

この出願の発明は、以上のとおりの事情に鑑みてなされたものであって、新規の精製ヒト蛋白質、この蛋白質をコードする DNA 断片、この DNA 断片の発現ベクター、この発現ベクターにより形質転換された細胞およびこの蛋白質に対する抗体を提供することを課題としている。

【0009】

【課題を解決するための手段】

この出願は、前記の課題を解決するものとして、以下の(1)～(7)の発明を提供する。

- (1) 配列番号 1 から配列番号 10 のいずれかのアミノ酸配列を有する精製ヒト蛋白質。
- (2) 前記(1)の蛋白質をコードする DNA 断片。
- (3) 前記(1)の蛋白質をコードするヒト cDNA であって、配列番号 11 から配列番号 20 のいずれかの塩基配列を有する DNA 断片。
- (4) 配列番号 21 から配列番号 30 のいずれかの塩基配列からなる前記(3)の DNA 断片。
- (5) 前記(2)から(4)のいずれかの DNA 断片をインビトロ翻訳あるいは宿主細胞内で発現しうる発現ベクター。
- (6) 前記(5)の発現ベクターによる形質転換体であって、前記(1)の蛋白質を生産しうる形質転換細胞。
- (7) 前記(1)の蛋白質に対する抗体。

【0010】

【発明の実施の形態】

前記発明(1)の蛋白質は、ヒトの臓器、細胞株などから単離する方法、この出願によって提供されるアミノ酸配列に基づき化学合成によってペプチドを調製する方法、あるいは前記発明(2)～(4)の DNA 断片を用いて組換え DNA 技術で生産する方法などにより取得することができるが、組換え DNA 技術で取得する方

法が好ましく用いられる。例えば、前記発明(3)または(4)のDNA断片(cDNA)を有するベクターからインビトロ転写によってRNAを調製し、これを鋳型としてインビトロ翻訳を行なうことによりインビトロで蛋白質を発現できる。また翻訳領域を公知の方法により適当な発現ベクターに組換えることにより、大腸菌、枯草菌等の原核細胞や、酵母、昆虫細胞、哺乳動物細胞、植物細胞等の真核細胞で、DNA断片がコードしている蛋白質を大量に発現させることができる。

【0011】

前記発明(1)の蛋白質をインビトロ翻訳でDNA断片を発現させて生産させる場合には、例えば前記発明(3)または(4)のDNA断片の翻訳領域を、RNAポリメラーゼプロモーターを有するベクターに組換え、プロモーターに対応するRNAポリメラーゼを含む、ウサギ網状赤血球溶解物や小麦胚芽抽出物などのインビトロ翻訳系に添加すれば、前記発明(1)の蛋白質をインビトロで生産することができる。RNAポリメラーゼプロモーターとしては、T7、T3、SP6などが例示できる。これらのRNAポリメラーゼプロモーターを含むベクターとしては、pKA1、pCDM8、pT3/T7 18、pT7/3 19、pBluescript IIなどが例示できる。

【0012】

前記発明(1)の蛋白質を大腸菌などの微生物でDNA断片を発現させて生産させる場合には、微生物中で複製可能なオリジン、プロモーター、リボソーム結合部位、DNAクローニング部位、ターミネーター等を有する発現ベクターに、例えば前記発明(3)または(4)のDNA断片の翻訳領域を組換えた発現ベクターを作成し、この発現ベクターで宿主細胞を形質転換したのち、得られた形質転換体を培養すれば、このDNA断片がコードしている蛋白質を微生物内で大量生産することができる。この際、任意の翻訳領域の前後に開始コドンと停止コドンを付加して発現させれば、任意の領域を含む蛋白質断片を得ることができる。あるいは、他の蛋白質との融合蛋白質として発現させることもできる。この融合蛋白質を適当なプロテアーゼで切断することによってこのcDNAがコードする蛋白質部分のみを取得することもできる。大腸菌用発現ベクターとしては、pUC系、pBluescript II、pET発現システム、pGEX発現システムなどが例示できる。

【 0 0 1 3 】

前記発明(1)の蛋白質を、真核細胞でDNA断片を発現させて生産させる場合には、例えば前記発明(3)または(4)のDNA断片の翻訳領域を、プロモーター、スプライシング領域、ポリ(A)付加部位等を有する真核細胞用発現ベクターに組換え、真核細胞内に導入すれば、前記発明(1)の蛋白質を真核細胞内で生産することができる。発現ベクターとしては、pKA1、pCDM8、pSVK3、pMSG、pSVL、pBK-CMV、pBK-RSV、EBVベクター、pRS、pYES2などが例示できる。また、pIND/V5-His、pFLAG-CMV-2、pEGFP-N1、pEGFP-C1などを発現ベクターとして用いれば、Hisタグ、FLAGタグ、GFPなど各種タグを付加した融合蛋白質として発現させることもできる。真核細胞としては、サル腎臓細胞COS7、チャイニーズハムスター卵巣細胞CHOなどの哺乳動物培養細胞、出芽酵母、分裂酵母、カイコ細胞、アフリカツメガエル卵細胞などが一般に用いられるが、前記発明(1)の蛋白質を発現できるものであれば、いかなる真核細胞でもよい。発現ベクターを真核細胞に導入するには、電気穿孔法、リン酸カルシウム法、リポソーム法、DEAEデキストラン法など公知の方法を用いることができる。

【 0 0 1 4 】

前記発明(1)の蛋白質を原核細胞や真核細胞で発現させたのち、培養物から目的蛋白質を単離精製するためには、公知の分離操作を組み合わせて行うことができる。例えば、尿素などの変性剤や界面活性剤による処理、超音波処理、酵素消化、塩析や溶媒沈殿法、透析、遠心分離、限外濾過、ゲル濾過、SDS-PAGE、等電点電気泳動、イオン交換クロマトグラフィー、疎水性クロマトグラフィー、アフィニティークロマトグラフィー、逆相クロマトグラフィーなどがあげられる。

【 0 0 1 5 】

前記発明(1)の蛋白質には、配列番号1から配列番号10のアミノ酸配列のいかなる部分アミノ酸配列からなるペプチド断片(5アミノ酸残基以上)も含まれる。これらのペプチド断片は抗体を作製するための抗原として用いることができ

る。また、前記発明(1)の蛋白質の多くは、翻訳された後、細胞内で各種修飾を受ける。したがって、これらの修飾された蛋白質も前記発明(1)の蛋白質の範囲に含まれる。このような翻訳後修飾としては、N末端メチオニンの脱離、N末端アセチル化、糖鎖付加、細胞内プロテアーゼによる限定分解、ミリスチル化、イソプレニル化、リン酸化などが例示できる。

【0016】

前記発明(2)～(4)のDNA断片には、前記(1)の蛋白質をコードするすべてのDNAが含まれる。このDNA断片は、化学合成による方法、cDNAクローニングによる方法、ヒトゲノムライブラリーをスクリーニングする方法などを用いて取得することができる。

【0017】

前記発明(3)または(4)のDNA断片(cDNA)は、例えばヒト細胞由来cDNAライブラリーからクローン化することができる。cDNAはヒト細胞から抽出したポリ(A)⁺RNAを鋳型として合成する。ヒト細胞としては、人体から手術などによって摘出されたものでも培養細胞でも良い。cDNAは、岡山-Berg法(Okayama, H. and Berg, P., Mol. Cell. Biol. 2:161-170, 1982)、Gubler-Hffman法(Gubler, U. and Hoffman, J., Gene 25:263-269, 1983)などいかなる方法を用いて合成してもよいが、完全長クローンを効率的に得るためには、実施例にあげたようなキャッピング法(Kato, S. et al., Gene 150:243-250, 1994)を用いることが望ましい。また市販のヒトcDNAライブラリーを用いることもできる。cDNAライブラリーから目的のcDNAをクローン化するには、この出願によって提供される前記発明(3)または(4)のcDNA(配列番号11から30)の任意部分の塩基配列に基づいてオリゴヌクレオチドを合成し、これをプローブとして用いて、公知の方法によりコロニーあるいはプラークハイブリダイゼーションによるスクリーニングを行えばよい。また、目的とするcDNA断片の両末端にハイブリダイズするオリゴヌクレオチドを合成し、これをプライマーとして用いて、ヒト細胞から単離したmRNAからRT-PCR法により、前記発明(3)または(4)のcDNA断片を調製することもできる。

【0018】

前記発明(3)のDNA断片は、配列番号11から20のいずれかの塩基配列を有するcDNAであり、前記発明(4)のDNA断片は、配列番号21から30のいずれかの塩基配列からなるcDNAである。それぞれのクローン番号(HP番号)、cDNAクローンが得られた細胞、cDNAの全塩基数、コードしている蛋白質のアミノ酸残基数をそれぞれ表1にまとめて示した。

【0019】

【表1】

配列番号	HP番号	細胞	塩基数	アミノ酸残基数
1, 11, 21	HP10098	U937	901	199
2, 12, 22	HP10106	U937	1274	326
3, 13, 23	HP10111	U937	1000	50
4, 13, 23	HP10149	U937	1087	176
5, 15, 25	HP10151	U-2 OS	703	51
6, 16, 26	HP10160	U937	921	190
7, 17, 27	HP10173	HT-1080	584	125
8, 18, 28	HP10178	HT-1080	467	125
9, 19, 29	HP10200	HT-1080	875	176
10, 20, 30	HP10327	KB	470	52

【0020】

なお、配列番号11から30のいずれかの塩基配列に基づいて合成したオリゴヌクレオチドプローブを用いて、表1に示したヒト細胞株やヒト組織から作製したcDNAライブラリーをスクリーニングすることにより、前記発明(3)および(4)のcDNAと同一のクローンを容易に得ることができる。

【0021】

また、一般にヒト遺伝子は個体差による多型が頻繁に認められる。従って配列番号11から30において、1または複数個のヌクレオチドの付加、欠失および/または他のヌクレオチドによる置換がなされているcDNAもこの発明の範囲に含まれる。

【0022】

同様に、これらの変更によって生じる1または複数個のアミノ酸の付加、欠失および/または他のアミノ酸による置換がなされている蛋白質も、配列番号1か

ら 1 0 のアミノ酸配列を有するそれぞれの蛋白質の活性を有する限り、この発明の範囲に含まれる。

【0 0 2 3】

前記発明 (3) および (4) の DNA 断片には、配列番号 1 1 から 3 0 の塩基配列のいかなる部分塩基配列からなる DNA 断片 (10bp 以上) も含まれる。また、センス鎖およびアンチセンス鎖からなる DNA 断片もこの範囲に含まれる。これらの DNA 断片は遺伝子診断用のプローブとして用いることができる。

【0 0 2 4】

前記発明 (7) の抗体は、前記発明 (1) の蛋白質を抗原として用いて動物を免疫した後、血清から得ることが出来る。抗原としては配列番号 1 から 1 0 のアミノ酸配列に基づいて化学合成したペプチドや、真核細胞や原核細胞で発現させた蛋白質を用いることが出来る。あるいは、上記の真核細胞用発現ベクターを注射や遺伝子銃によって、動物の筋肉や皮膚に導入した後、血清を採取することによって作製することができる (例えば、特開平 7 - 3 1 3 1 8 7 号公報記載の方法)。動物としては、マウス、ラット、ウサギ、ヤギ、ニワトリなどが用いられる。免疫した動物の脾臓から採取した B 細胞をミエローマと融合させてハイブリドーマを作製すれば、前記発明 (1) の蛋白質に対するモノクローナル抗体を産生することができる。

【0 0 2 5】

【実施例】

次に実施例を示してこの出願の発明をさらに詳細かつ具体的に説明するが、この出願の発明は以下の例によって限定されるものではない。なお、以下の実施例において、DNA の組換えに関する基本的な操作および酵素反応は、文献 ("Molecular Cloning. A Laboratory Manual", Cold Spring Harbor Laboratory, 1989) の記載に方従った。制限酵素および各種修飾酵素は特に記載の無い場合は宝酒造社製のものを用いた。各酵素反応の緩衝液組成、並びに反応条件は付属の説明書に従った。cDNA 合成は文献 (Kato, S. et al., Gene 150:243-250, 1994) の記載に従った。

実施例 1 : cDNA クローニング

cDNAライブラリーとして、ヒト骨肉腫細胞株U-2 OS cDNAライブラリー (WO97/33993)、ヒト類表皮癌細胞株KB cDNAライブラリー (WO98/11217)、ヒトフィブロサルコーマ細胞株HT-1080 cDNAライブラリー (WO97/33993)、ヒトリンホーマ細胞株U937 cDNAライブラリー (WO97/33993) を用いた。個々のライブラリーから完全長 cDNA クローンを選択し、その全塩基配列決定を行った。得られたクローン (A) ~ (J) の詳細は以下のとおりである。

(A) HP10098

ヒトリンホーマ細胞株U937 cDNAライブラリーから得られたクローンHP10098のcDNAインサートの全塩基配列を決定したところ、35bpの5' 非翻訳領域、600bpのORF (配列番号11)、266bpの3' 非翻訳領域からなる構造を有していた (配列番号21)。ORFは199アミノ酸残基 (配列番号1) からなる蛋白質をコードしており、インビトロ翻訳の結果、ORFから予想される分子量21,750よりやや大きい24kDaの翻訳産物が生成した (実施例2)。この蛋白質とGFPとの融合蛋白質は、細胞質に粒状の発現が認められた (実施例4)。

【0026】

また、クローン (A) cDNAの塩基配列を用いてGenBankを検索したところ、ESTの中に、90%以上の相同性を有するもの (例えば、アクセシオン番号H40208) が登録されていたが、部分配列なのでクローン (A) がコードする蛋白質と同じ蛋白質をコードしているかどうかは判定できない。

(B) HP10106

ヒトリンホーマ細胞株U937 cDNAライブラリーから得られたクローンHP10106のcDNAインサートの全塩基配列を決定したところ、130bpの5' 非翻訳領域、981bpのORF (配列番号12)、163bpの3' 非翻訳領域からなる構造を有していた (配列番号22)。ORFは326アミノ酸残基 (配列番号2) からなる蛋白質をコードしており、インビトロ翻訳の結果、ORFから予想される分子量36,684よりやや大きい41kDaの翻訳産物が生成した (実施例2)。この蛋白質とGFPとの融合蛋白質は、細胞全体に発

現が認められた（実施例 4）。

【0027】

また、クローン（B） cDNA の塩基配列を用いて GenBank を検索したところ、EST の中に、90% 以上の相同性を有するもの（例えば、アクセシオン番号 AA384225）が登録されていたが、部分配列なのでクローン（B）がコードする蛋白質と同じ蛋白質をコードしているかどうかは判定できない。

（C） HP10111

ヒトリンホーマ細胞株 U937 cDNA ライブラリーから得られたクローン HP10111 の cDNA インサートの全塩基配列を決定したところ、32bp の 5' 非翻訳領域、153bp の ORF（配列番号 13）、815bp の 3' 非翻訳領域からなる構造を有していた（配列番号 23）。ORF は 50 アミノ酸残基（配列番号 3）からなる蛋白質をコードしていた。インビトロ翻訳の結果、ORF から予想される分子量 5,547 とほぼ同じ 6kDa の翻訳産物が生成した（実施例 2）。この蛋白質と GFP との融合蛋白質は、細胞全体に網状の発現が認められた（実施例 4）。

【0028】

また、クローン（C） cDNA の塩基配列を用いて GenBank を検索したところ、EST の中に、90% 以上の相同性を有するもの（例えば、アクセシオン番号 AL110141）が登録されていたが、部分配列なのでクローン（C）がコードする蛋白質と同じ蛋白質をコードしているかどうかは判定できない。

（D） HP10149

ヒトリンホーマ細胞株 U937 cDNA ライブラリーから得られたクローン HP10149 の cDNA インサートの全塩基配列を決定したところ、27bp の 5' 非翻訳領域、531bp の ORF（配列番号 14）、529bp の 3' 非翻訳領域からなる構造を有していた（配列番号 24）。ORF は 176 アミノ酸残基（配列番号 4）からなる蛋白質をコードしており、インビトロ翻訳の結果、ORF から予想される分子量 20,734 よりやや大きい 23kDa の翻訳産物が生成した（実施例 2）。この蛋白質と GFP との融合蛋白質は、細胞全体に認められた（実施例 4）。

【0 0 2 9】

この蛋白質のアミノ酸配列を用いてプロテインデータベースを検索したところ、線虫仮想蛋白質 W 0 2 A 1 1. 2 (アクセシオン番号 C A B 0 4 8 8 9) と類似性を有していた。図 1 に、クローン (D) がコードするヒト蛋白質と、線虫仮想蛋白質 W 0 2 A 1 1. 2 のアミノ酸配列の比較を示す。－はギャップを、* はこの発明の蛋白質と同一アミノ酸残基を、. はこの発明の蛋白質と類似のアミノ酸残基をそれぞれ表す。全領域にわたって、4 2. 5 % の相同性を有していた。

【0 0 3 0】

また、クローン (D) c D N A の塩基配列を用いて G e n B a n k を検索したところ、E S T の中に、9 0 % 以上の相同性を有するもの (例えば、アクセシオン番号 T 3 4 9 8 9) が登録されていたが、部分配列なのでクローン (D) がコードする蛋白質と同じ蛋白質をコードしているかどうかは判定できない。

(E) H P 1 0 1 5 1

ヒト骨肉腫細胞株 U - 2 O S c D N A ライブラリーから得られたクローン H P 1 0 1 5 1 の c D N A インサートの全塩基配列を決定したところ、6 6 b p の 5' 非翻訳領域、1 5 6 b p の O R F (配列番号 1 5)、4 8 1 b p の 3' 非翻訳領域からなる構造を有していた (配列番号 2 5)。O R F は 5 1 アミノ酸残基 (配列番号 5) からなる蛋白質をコードしており、インビトロ翻訳の結果、O R F から予想される分子量 6, 0 3 1 とほぼ同じ 6 k D a の翻訳産物が生成した (実施例 2)。この蛋白質と G F P との融合蛋白質は、ゴルジ体に局在が認められた (実施例 4)。

【0 0 3 1】

また、クローン (E) c D N A の塩基配列を用いて G e n B a n k を検索したところ、E S T の中に、9 0 % 以上の相同性を有するもの (例えば、アクセシオン番号 A A 3 0 4 5 0 3) が登録されていたが、部分配列なのでクローン (E) がコードする蛋白質と同じ蛋白質をコードしているかどうかは判定できない。

(F) H P 1 0 1 6 0

ヒトリンホーマ細胞株 U 9 3 7 D N A ライブラリーから得られたクローン H P 1 0 1 6 0 の c D N A インサートの全塩基配列を決定したところ、2 0 3 b p の

5' 非翻訳領域、573bpのORF（配列番号16）、145bpの3' 非翻訳領域からなる構造を有していた（配列番号26）。ORFは190アミノ酸残基（配列番号6）からなる蛋白質をコードしており、インビトロ翻訳の結果、ORFから予想される分子量21,481よりやや大きい25kDaの翻訳産物が生成した（実施例2）。この蛋白質とGFPとの融合蛋白質は、細胞全体に発現が認められた（実施例4）。

【0032】

この蛋白質のアミノ酸配列を用いてプロテインデータベースを検索したところ、線虫仮想蛋白質ZK1248.15（アクセション番号AAC71096）と類似性を有していた。図2に、クローン（D）がコードするヒト蛋白質と、線虫仮想蛋白質ZK1248.15のアミノ酸配列の比較を示す。－はギャップを、*はこの発明の蛋白質と同一アミノ酸残基を、.はこの発明の蛋白質と類似のアミノ酸残基をそれぞれ表す。N末端側159アミノ酸残基にわたって、36.5%の相同性を有していた。

【0033】

また、クローン（F）cDNAの塩基配列を用いてGenBankを検索したところ、ESTの中に、90%以上の相同性を有するもの（例えば、アクセション番号AA304503）が登録されていたが、部分配列なのでクローン（F）がコードする蛋白質と同じ蛋白質をコードしているかどうかは判定できない。

（G） HP10173

ヒトフィブロサルコーマ細胞株HT-1080 cDNAライブラリーから得られたクローンHP10173のcDNAインサートの全塩基配列を決定したところ、40bpの5' 非翻訳領域、378bpのORF（配列番号17）、166bpの3' 非翻訳領域からなる構造を有していた（配列番号27）。ORFは125アミノ酸残基（配列番号7）からなる蛋白質をコードしており、インビトロ翻訳の結果、ORFから予想される分子量14,190とほぼ同じ15kDaの翻訳産物が生成した（実施例2）。この蛋白質とGFPとの融合蛋白質は、細胞全体に認められた（実施例4）。

【0034】

この蛋白質のアミノ酸配列を用いてプロテインデータベースを検索したところ、線虫仮想蛋白質C04H5.1（アクセシオン番号CAB03840）と類似性を有していた。図3に、クローン（D）がコードするヒト蛋白質と、線虫仮想蛋白質C04H5.1のアミノ酸配列の比較を示す。－はギャップを、*はこの発明の蛋白質と同一アミノ酸残基を、. はこの発明の蛋白質と類似のアミノ酸残基をそれぞれ表す。全領域にわたって、35.5%の相同性を有していた。

【0035】

また、クローン（G）cDNAの塩基配列を用いてGenBankを検索したところ、ESTの中に、90%以上の相同性を有するもの（例えば、アクセシオン番号AA937773）が登録されていたが、部分配列なのでクローン（G）がコードする蛋白質と同じ蛋白質をコードしているかどうかは判定できない。

（H） HP10178

ヒトフィブロサルコーマ細胞株HT-1080 cDNAライブラリーから得られたクローンHP10178のcDNAインサートの全塩基配列を決定したところ、39bpの5' 非翻訳領域、378bpのORF（配列番号18）、50bpの3' 非翻訳領域からなる構造を有していた（配列番号28）。ORFは125アミノ酸残基（配列番号8）からなる蛋白質をコードしており、インビトロ翻訳の結果、ORFから予想される分子量13,506よりやや大きい15kDaの翻訳産物が生成した（実施例2）。この蛋白質とGFPとの融合蛋白質は、核あるいは細胞質に局在が認められた（実施例4）。

【0036】

また、クローン（H）cDNAの塩基配列を用いてGenBankを検索したところ、ESTの中に、90%以上の相同性を有するもの（例えば、アクセシオン番号AA218581）が登録されていたが、部分配列なのでクローン（H）がコードする蛋白質と同じ蛋白質をコードしているかどうかは判定できない。

（I） HP10200

ヒトフィブロサルコーマ細胞株HT-1080 cDNAライブラリーから得られたクローンHP10200のcDNAインサートの全塩基配列を決定したところ、24bpの5' 非翻訳領域、531bpのORF（配列番号19）、320

b p の 3' 非翻訳領域からなる構造を有していた（配列番号 29）。ORF は 176 アミノ酸残基（配列番号 9）からなる蛋白質をコードしており、インビトロ翻訳の結果、ORF から予想される分子量 18,408 よりやや大きい 24 kDa の翻訳産物が生成した（実施例 2）。この蛋白質と GFP との融合蛋白質は、細胞全体に認められた（実施例 4）。

【0037】

また、クローン（I）cDNA の塩基配列を用いて GenBank を検索したところ、EST の中に、90% 以上の相同性を有するもの（例えば、アクセシオン番号 AA187416）が登録されていたが、部分配列なのでクローン（I）がコードする蛋白質と同じ蛋白質をコードしているかどうかは判定できない。

（J） HP10327

ヒト類表皮癌細胞株 KB cDNA ライブラリーから得られたクローン HP10327 の cDNA インサートの全塩基配列を決定したところ、215 bp の 5' 非翻訳領域、159 bp の ORF（配列番号 20）、96 bp の 3' 非翻訳領域からなる構造を有していた（配列番号 30）。ORF は 52 アミノ酸残基（配列番号 10）からなる蛋白質をコードしており、インビトロ翻訳の結果、ORF から予想される分子量 5,636 とほぼ同じ 6 kDa の翻訳産物が生成した（実施例 2）。この蛋白質と GFP との融合蛋白質は、細胞質に網目状の発現が認められた。（実施例 4）。

【0038】

また、クローン（J）cDNA の塩基配列を用いて GenBank を検索したところ、EST の中に、90% 以上の相同性を有するもの（例えば、アクセシオン番号 AI097092）が登録されていたが、部分配列なのでクローン（J）がコードする蛋白質と同じ蛋白質をコードしているかどうかは判定できない。

実施例 2：インビトロ翻訳による蛋白質合成

実施例 1 で単離した cDNA を有するプラスミドベクターを用いて、T_NT ウサギ網状赤血球溶解物キット（プロメガ社製）によるインビトロ転写／翻訳を行なった。この際 [³⁵S] メチオニンを添加し、発現産物をラジオアイソトープでラベルした。いずれの反応もキットに付属のプロトコールに従って行なった。

具体的な方法は次のとおりである。プラスミド $2\mu\text{g}$ を、 T_N Tウサギ網状赤血球溶解物 $12.5\mu\text{l}$ 、緩衝液（キットに付属） $0.5\mu\text{l}$ 、アミノ酸混合液（メチオニンを含まない） $2\mu\text{l}$ 、 $[\text{S}^{35}]$ メチオニン（アマーシャム社） $2\mu\text{l}$ （ $0.37\text{MBq}/\mu\text{l}$ ）、T7RNAポリメラーゼ $0.5\mu\text{l}$ 、RNasin 20U を含む総量 $25\mu\text{l}$ の反応液中で 30°C 、90分間反応させた。反応液 $3\mu\text{l}$ にSDSサンプリングバッファー（ 125mM トリス塩酸緩衝液、 $\text{pH}6.8$ 、 120mM 2-メルカプトエタノール、2%SDS溶液、0.025%ブROMOFENOLBLUE、20%グリセロール） $2\mu\text{l}$ を加え、 95°C 3分間加熱処理した後、SDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動にかけた。オートラジオグラフィを行ない、翻訳産物の分子量を求めた。

実施例3：COS7細胞による発現

実施例1で単離したcDNAを保有する発現ベクターによって形質転換した大腸菌を $100\mu\text{g}/\text{ml}$ アンピシリン含有2xYT培地 2ml 中で 37°C 2時間培養した後、ヘルパーファージM13KO7（ $50\mu\text{l}$ ）を添加し、 37°C で一晩培養した。遠心によって分離した上澄からポリエチレングリコール沈殿によって一本鎖ファージ粒子を得た。これを $100\mu\text{l}$ の 1mM トリス- 0.1mM EDTA、 $\text{pH}8$ （TE）に懸濁した。

【0039】

サル腎臓由来培養細胞COS7は、10%ウシ胎児血清を含むダルベッコ改変イーグル（DMEM）培地中、5%CO₂存在下、 37°C で培養した。 1×10^5 個のCOS7細胞を6穴プレート（ヌンク社、穴の直径3cm）に植え、5%CO₂存在下、 37°C で22時間培養した。培地除去後、リン酸緩衝液で細胞表面を洗浄し、さらに 50mM トリス塩酸（ $\text{pH}7.5$ ）を含むDMEM（TDMEM）で再度洗浄した。この細胞に一本鎖ファージ懸濁液 $1\mu\text{l}$ 、DMEM培地 0.6ml 、TRANSFECTAMTM（IBF社） $3\mu\text{l}$ を懸濁したものを添加し、5%CO₂存在下、 37°C で3時間培養した。サンプル液を除去後、TDMEMで細胞表面を洗浄し、10%ウシ胎児血清含有DMEMを1穴あたり 2ml 加え、5%CO₂存在下、 37°C にて2日間培養した。培地を $[\text{S}^{35}]$ システインあるいは $[\text{S}^{35}]$ メチオニンを含む培地に交換した後、1時間培養した。遠心

分離によって、培地と細胞を分けたあと、細胞画分の蛋白質を SDS-PAGE にかけた。

実施例 4：緑色蛍光蛋白質 (GFP) 融合蛋白質の発現

EcoRI 認識部位を付加した翻訳開始コドンから始まる 26mer のセンスプライマーと BamHI 認識部位を付加した停止コドンまでを含む 26mer のアンチセンスプライマーを用い、目的蛋白質をコードする cDNA を鋳型として PCR により翻訳領域を増幅した。PCR 産物を EcoRI と BamHI で消化し、GFP 融合蛋白質発現用ベクター pEGFP-N1 (Clontec 社製) の EcoRI-BamHI 部位に挿入した。塩基配列を確認した後、得られた融合遺伝子発現ベクターを実施例 3 に記載の方法により COS7 細胞にトランスフェクトした。蛍光顕微鏡により緑色蛍光の分布を観察し、目的蛋白質の局在部位を調べた。

実施例 5：抗体の作製

EcoRI 認識部位を付加した翻訳開始コドンから始まる 26mer のセンスプライマーと SalI 認識配列を付加した停止コドンまでを含む 26mer のアンチセンスプライマーを用い、各 cDNA を鋳型として PCR により翻訳領域を増幅した。PCR 産物を EcoRI と SalI で消化し、pGEX-5X-1 (ファルマシア社製) の EcoRI と SalI 部位に挿入した。塩基配列を確認した後、宿主大腸菌 JM109 の形質転換を行った。LB 培地中で 37℃、5 時間培養し、IPTG を最終濃度が 0.4 mM になるように加え、さらに 37℃ で 4 時間培養した。菌体を遠心により分離し、溶解溶液 (50 mM Tris-HCl pH 7.5、1 mM EDTA、0.2 mM PMF) に溶かし、一度 -80℃ で凍結させ融解させた後、超音波破碎を行った。10,000 x g で 30 分遠心し、上清にグルタチオンセファロース 4B を加え、4℃ で 1 時間インキュベートした。ビーズを十分洗浄した後、溶出溶液 (50 mM Tris-HCl pH 7.5、50 mM グルタチオン) で融合蛋白質を溶出した。得られた融合蛋白質を抗原として家兔に常法により免疫を行い抗血清を得た。抗血清はまず、40% 飽和硫酸沈殿画分を GST アフィニティーカラムにより GST 抗体を除いた。素通り画分をさらに GST 融合蛋白質の抗原カラムにより精製した。

【 0 0 4 0 】

【発明の効果】

以上詳しく説明したとおり、この出願によって、新規な精製ヒト蛋白質、これらの蛋白質をコードしているDNA断片、このDNA断片の発現ベクター、この発現ベクターによる形質転換細胞、およびこの蛋白質に対する抗体が提供される。この出願によって提供される蛋白質は、いずれも細胞内で機能している蛋白質と考えられるため、細胞内ターゲット蛋白質として、対応するレセプターやリガンドの検出、新しい低分子医薬のスクリーニングなどに利用できる。またこの蛋白質に対する抗体を作製するための抗原として用いることができる。この出願によって提供されるDNA断片は、遺伝子診断用プローブや遺伝子治療用遺伝子源として用いることができる。また、このDNA断片を用いることにより、この蛋白質を大量に発現することができる。これら遺伝子を導入してこの蛋白質を発現させた細胞は、この蛋白質の修飾型を得るのに利用できる。この出願によって提供される抗体は、この発明の蛋白質の検出、定量、精製などに利用できる。

【 0 0 4 1 】

【配列表】

SEQUENCE LISTING

<110> Japan Science and Technology Corporation

<120> ヒト蛋白質とcDNA

<130> NP99461-YS

<140>

<141>

<160> 30

<170> PatentIn Ver. 2.0

<210> 1

<211> 199

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 1

Met Arg Phe Arg Phe Cys Gly Asp Leu Asp Cys Pro Asp Trp Val Leu

1 5 10 15

Ala Glu Ile Ser Thr Leu Ala Lys Met Ser Ser Val Lys Leu Arg Leu

20 25 30

Leu Cys Ser Gln Val Leu Lys Glu Leu Leu Gly Gln Gly Ile Asp Tyr

35 40 45

Glu Lys Ile Leu Lys Leu Thr Ala Asp Ala Lys Phe Glu Ser Gly Asp

50 55 60

Val Lys Ala Thr Val Ala Val Leu Ser Phe Ile Leu Ser Ser Ala Ala

65 70 75 80

Lys His Ser Val Asp Gly Glu Ser Leu Ser Ser Glu Leu Gln Gln Leu

85 90 95

Gly Leu Pro Lys Glu His Ala Ala Ser Leu Cys Arg Cys Tyr Glu Glu

100 105 110

Lys Gln Ser Pro Leu Gln Lys His Leu Arg Val Cys Ser Leu Arg Met

115 120 125

Asn Arg Leu Ala Gly Val Gly Trp Arg Val Asp Tyr Thr Leu Ser Ser

130 135 140

Ser Leu Leu Gln Ser Val Glu Glu Pro Met Val His Leu Arg Leu Glu
145 150 155 160

Val Ala Ala Ala Pro Gly Thr Pro Ala Gln Pro Val Ala Met Ser Leu
165 170 175

Ser Ala Asp Lys Phe Gln Val Leu Leu Ala Glu Leu Lys Gln Ala Gln
180 185 190

Thr Leu Met Ser Ser Leu Gly
195

<210> 2

<211> 326

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 2

Met Lys Gln Asp Ala Ser Arg Asn Ala Ala Tyr Thr Val Asp Cys Glu
1 5 10 15

Asp Tyr Val His Val Val Glu Phe Asn Pro Phe Glu Asn Gly Asp Ser
20 25 30

Gly Asn Leu Ile Ala Tyr Gly Gly Asn Asn Tyr Val Val Ile Gly Thr
35 40 45

Cys Thr Phe Gln Glu Glu Glu Ala Asp Val Glu Gly Ile Gln Tyr Lys

50

55

60

Thr Leu Arg Thr Phe His His Gly Val Arg Val Asp Gly Ile Ala Trp

65

70

75

80

Ser Pro Glu Thr Arg Leu Asp Ser Leu Pro Pro Val Ile Lys Phe Cys

85

90

95

Thr Ser Ala Ala Asp Met Lys Ile Arg Leu Phe Thr Ser Asp Leu Gln

100

105

110

Asp Lys Asn Glu Tyr Lys Val Leu Glu Gly His Thr Asp Phe Ile Asn

115

120

125

Gly Leu Val Phe Asp Pro Lys Glu Gly Gln Glu Ile Ala Ser Val Ser

130

135

140

Asp Asp His Thr Cys Arg Ile Trp Asn Leu Glu Gly Val Gln Thr Ala

145

150

155

160

His Phe Val Leu His Ser Pro Gly Met Ser Val Cys Trp His Pro Glu

165

170

175

Glu Thr Phe Lys Leu Met Val Ala Glu Lys Asn Gly Thr Ile Arg Phe

180

185

190

Tyr Asp Leu Leu Ala Gln Gln Ala Ile Leu Ser Leu Glu Ser Glu Gln

195

200

205

Val Pro Leu Met Ser Ala His Trp Cys Leu Lys Asn Thr Phe Lys Val
210 215 220

Gly Ala Val Ala Gly Asn Asp Trp Leu Ile Trp Asp Ile Thr Arg Ser
225 230 235 240

Ser Tyr Pro Gln Asn Lys Arg Pro Val His Met Asp Arg Ala Cys Leu
245 250 255

Phe Arg Trp Ser Thr Ile Ser Glu Asn Leu Phe Ala Thr Thr Gly Tyr
260 265 270

Pro Gly Lys Met Ala Ser Gln Phe Gln Ile His His Leu Gly His Pro
275 280 285

Gln Pro Ile Leu Met Gly Ser Val Ala Val Gly Ser Gly Leu Ser Trp
290 295 300

His Arg Thr Leu Pro Leu Cys Val Ile Gly Gly Asp His Lys Leu Leu
305 310 315 320

Phe Trp Val Thr Glu Val
325

<210> 3

<211> 50

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 3

Met Val Leu Gly Ala Asp Ala Val Trp Leu Trp Ile Ala Pro Tyr Gly

1

5

10

15

Gln Leu Cys Pro Gln Gly Arg Met Arg Ile Ala Thr Glu Val Leu Lys

20

25

30

Ser Lys Pro Asn Ser Ser His Trp His Thr Gly Ile Arg Gln Lys Ala

35

40

45

Gly Ser

50

<210> 4

<211> 176

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 4

Met Ala Met Ser Phe Glu Trp Pro Trp Gln Tyr Arg Phe Pro Pro Phe

1

5

10

15

Phe Thr Leu Gln Pro Asn Val Asp Thr Arg Gln Lys Gln Leu Ala Ala

20

25

30

Trp Cys Ser Leu Val Leu Ser Phe Cys Arg Leu His Lys Gln Ser Ser

35

40

45

Met Thr Val Met Glu Ala Gln Glu Ser Pro Leu Phe Asn Asn Val Lys

50

55

60

Leu Gln Arg Lys Leu Pro Val Glu Ser Ile Gln Ile Val Leu Glu Glu

65

70

75

80

Leu Arg Lys Lys Gly Asn Leu Glu Trp Leu Asp Lys Ser Lys Ser Ser

85

90

95

Phe Leu Ile Met Trp Arg Arg Pro Glu Glu Trp Gly Lys Leu Ile Tyr

100

105

110

Gln Trp Val Ser Arg Ser Gly Gln Asn Asn Ser Val Phe Thr Leu Tyr

115

120

125

Glu Leu Thr Asn Gly Glu Asp Thr Glu Asp Glu Glu Phe His Gly Leu

130

135

140

Asp Glu Ala Thr Leu Leu Arg Ala Leu Gln Ala Leu Gln Gln Glu His

145

150

155

160

Lys Ala Glu Ile Ile Thr Val Ser Asp Gly Arg Gly Val Lys Phe Phe

165

170

175

<210> 5

<211> 51

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 5

Met Phe Arg Ile Glu Gly Leu Ala Pro Lys Leu Asp Pro Glu Glu Met

1 5 10 15

Lys Arg Lys Met Arg Glu Asp Val Ile Ser Ser Ile Arg Asn Phe Leu

20 25 30

Ile Tyr Val Ala Leu Leu Arg Val Thr Pro Phe Ile Leu Lys Lys Leu

35 40 45

Asp Ser Ile

50

<210> 6

<211> 190

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 6

Met Ala Ser Arg Gly Lys Thr Glu Thr Ser Lys Leu Lys Gln Asn Leu

1 5 10 15

Glu Glu Gln Leu Asp Arg Leu Met Gln Gln Leu Gln Asp Leu Glu Glu

20 25 30

Cys Arg Glu Glu Leu Asp Thr Asp Glu Tyr Glu Glu Thr Lys Lys Glu

35

40

45

Thr Leu Glu Gln Leu Ser Glu Phe Asn Asp Ser Leu Lys Lys Ile Met

50

55

60

Ser Gly Asn Met Thr Leu Val Asp Glu Leu Ser Gly Met Gln Leu Ala

65

70

75

80

Ile Gln Ala Ala Ile Ser Gln Ala Phe Lys Thr Pro Glu Val Ile Arg

85

90

95

Leu Phe Ala Lys Lys Gln Pro Gly Gln Leu Arg Thr Arg Leu Ala Glu

100

105

110

Met Asp Arg Asp Leu Met Val Gly Lys Leu Glu Arg Asp Leu Tyr Thr

115

120

125

Gln Gln Lys Val Glu Ile Leu Thr Ala Leu Arg Lys Leu Gly Glu Lys

130

135

140

Leu Thr Ala Asp Asp Glu Ala Phe Leu Ser Ala Asn Ala Gly Ala Ile

145

150

155

160

Leu Ser Gln Phe Glu Lys Val Ser Thr Asp Leu Gly Ser Gly Asp Lys

165

170

175

Ile Leu Ala Leu Ala Ser Phe Glu Val Glu Lys Thr Lys Lys

180

185

190

<210> 7

<211> 125

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 7

Met Lys Leu Leu Thr His Asn Leu Leu Ser Ser His Val Arg Gly Val

1

5

10

15

Gly Ser Arg Gly Phe Pro Leu Arg Leu Gln Ala Thr Glu Val Arg Ile

20

25

30

Cys Pro Val Glu Phe Asn Pro Asn Phe Val Ala Arg Met Ile Pro Lys

35

40

45

Val Glu Trp Ser Ala Phe Leu Glu Ala Ala Asp Asn Leu Arg Leu Ile

50

55

60

Gln Val Pro Lys Gly Pro Val Glu Gly Tyr Glu Glu Asn Glu Glu Phe

65

70

75

80

Leu Arg Thr Met His His Leu Leu Leu Glu Val Glu Val Ile Glu Gly

85

90

95

Thr Leu Gln Cys Pro Glu Ser Gly Arg Met Phe Pro Ile Ser Arg Gly

100

105

110

Ile Pro Asn Met Leu Leu Ser Glu Glu Glu Thr Glu Ser

115

120

125

<210> 8

<211> 118

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 8

Met Ala Gly Ala Gly Pro Thr Met Leu Leu Arg Glu Glu Asn Gly Cys

1

5

10

15

Cys Ser Arg Arg Gln Ser Ser Ser Ser Ala Gly Asp Ser Asp Gly Glu

20

25

30

Arg Glu Asp Ser Ala Ala Glu Arg Ala Arg Gln Gln Leu Glu Ala Leu

35

40

45

Leu Asn Lys Thr Met Arg Ile Arg Met Thr Asp Gly Arg Thr Leu Val

50

55

60

Gly Cys Phe Leu Cys Thr Asp Arg Asp Cys Asn Val Ile Leu Gly Ser

65

70

75

80

Ala Gln Glu Phe Leu Lys Pro Ser Asp Ser Phe Ser Ala Gly Glu Pro

85

90

95

Arg Val Leu Gly Leu Ala Met Val Pro Gly His His Ile Val Ser Ile

100

105

110

Glu Val Gln Arg Glu Ser Leu Thr Gly Pro Pro Tyr Leu

115

120

125

<210> 9

<211> 176

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 9

Met Ala Ala Arg Gly Arg Arg Ala Glu Pro Gln Gly Arg Glu Ala Pro

1

5

10

15

Gly Pro Ala Gly Gly Gly Gly Gly Gly Ser Arg Trp Ala Glu Ser Gly

20

25

30

Ser Gly Thr Ser Pro Glu Ser Gly Asp Glu Glu Val Ser Gly Ala Gly

35

40

45

Ser Ser Pro Val Ser Gly Gly Val Asn Leu Phe Ala Asn Asp Gly Ser

50

55

60

Phe Leu Glu Leu Phe Lys Arg Lys Met Glu Glu Glu Gln Arg Gln Arg

65

70

75

80

Gln Glu Glu Pro Pro Pro Gly Pro Gln Arg Pro Asp Gln Ser Ala Ala

85

90

95

Ala Ala Gly Pro Gly Asp Pro Lys Arg Lys Gly Gly Pro Gly Ser Thr

100

105

110

Leu Ser Phe Val Gly Lys Arg Arg Gly Gly Asn Lys Leu Ala Leu Lys

115

120

125

Thr Gly Ile Val Ala Lys Lys Gln Lys Thr Glu Asp Glu Val Leu Thr

130

135

140

Ser Lys Gly Asp Ala Trp Ala Lys Tyr Met Ala Glu Val Lys Lys Tyr

145

150

155

160

Lys Ala His Gln Cys Gly Asp Asp Asp Lys Thr Arg Pro Leu Val Lys

165

170

175

<210> 10

<211> 52

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 10

Met Thr Asp Thr Glu Asn His Asp Ser Ala Pro Ser Ser Thr Ser Thr

1

5

10

15

Cys Cys Pro Pro Ile Thr Ala Gly Met Gln Leu Lys Asp Ser Leu Gly

20

25

30

Pro Gly Ser Asn Arg Pro Leu Trp Thr Leu Arg Pro Leu His Leu Trp

35

40

45

Val Val Cys Leu

50

<210> 11

<211> 600

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 11

atgaggttcc ggttctgtgg tgatctggac tgtcccgact gggtcctggc agaaatcagc 60
acgctggcca agatgtcctc tgtgaagttg cggctgctct gcagccaggt actaaaggag 120
ctgctgggac aggggattga ttatgagaag atcctgaagc tcacggctga cgccaagttt 180
gagtcaggcg atgtgaaggc cacagtggca gtgctgagtt tcatcctctc cagtgcggcc 240
aagcacagtg tcgatggcga atccttgtcc agtgaactgc agcagctggg gctgccc aaa 300
gagcacgcgg ccagcctgtg ccgctgttat gaggagaagc aaagcccctt gcagaagcac 360
ttgcgggtct gcagcctacg catgaatagg ttggcagggtg tgggctggcg ggtggactac 420
accctgagct ccagcctgct gcaatccgtg gaagagccca tgggtgcacct gcggctggag 480
gtggcagctg cccaggggac cccagcccag cctgttgcca tgtccctctc agcagacaag 540
ttccaggctc tcctggcaga actgaagcag gccagaccc tgatgagctc cctgggctga 600

<210> 12

<211> 981

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 12

atgaagcaag atgcctcaag aaatgctgcc tacactgtgg attgtgaaga ttatgtgcat 60
 gtggtagaat ttaatccctt tgagaatggg gattcaggaa acctaattgc atatggtggc 120
 aataattatg tggtcattgg cacgtgtacg tttcaggaag aagaagcaga cgttgaaggc 180
 attcagtata aaacacttcg aacatttcac catggagtca gggttgatgg catagcttgg 240
 agcccagaga ctagacttga ttcattgcct ccagtaatca aattttgtac ttcagctgct 300
 gatatgaaaa ttagattatt tacttcagat cttcaggata aaaatgaata taaggtttta 360
 gagggccata ccgatttcat taatggtttg gtgtttgatc ccaaagaagg ccaagaaatt 420
 gcaagtgtga gtgacgatca cacctgcagg atttggaact tggaaggagt gcaaacagct 480
 cttttgttc ttcattctcc tggcatgagt gtgtgctggc atcctgagga gacttttaag 540
 ctaatggttg cagagaagaa tggaacaatc cggttttatg atcttttggc ccaacaggct 600
 attttatctc ttgaatcaga acaagtgcc aataatgtcag cacactgggtg cttaaaaaac 660
 accttcaaag ttggagccgt tgcaggaaat gattggttaa tttgggatat tactcgggtcc 720
 agttatcctc aaaataagag acctgttcac atggatcgag cctgcttatt cagggtgggtcc 780
 acaattagtg aaaatctgtt tgcaaccact ggttatcctg gcaaaatggc aagccagttt 840
 caaattcatc atttaggaca cctcagccc atcctcatgg gttctgtagc cgttggatct 900
 ggactgtcct ggcatcgaac tctccctctg tgtgtaattg gaggagacca caagctgttg 960
 ttttgggtga ctgaagtata a 981

<210> 13

<211> 153

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 13

atggtgctgg gtgcagatgc agtgtggctc tggatagcac cttatggaca gttgtgtccc 60
 caaggaagga tgagaatagc tactgaagtc ctaaagagca agcctaactc aagccattgg 120
 cacacaggca ttagacagaa agctggaagt tga 153

<210> 14

<211> 531

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 14

```
atggc gatga gtttcgagtg gccgtggcag tatcgcttcc cacccttctt tacgttacaa 60
ccgaatgtgg acactcggca gaagcagctg gccgcctggg gtcgctggg cctgtccttc 120
tgccgcctgc acaaacagtc cagcatgacg gtgatggaag ctcaggagag cccgctcttc 180
aacaacgtca agctacagcg aaagcttcct gtggagtcga tccagattgt attagaggaa 240
ctgaggaaga aagggaacct cgagtgggtg gataagagca agtccagctt cctgatcatg 300
tggcggaggc cagaagaatg ggggaaactc atctatcagt gggtttccag gagtggccag 360
aacaactccg tctttaccct gtatgaactg actaatgggg aagacacaga ggatgaggag 420
ttccacgggc tggatgaagc cactctactg cgggctctgc aggccctaca gcaggagcac 480
aaggccgaga tcatcactgt cagcgatggc cgaggcgtca agttcttcta g 531
```

<210> 15

<211> 156

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 15

```
atgttccgga ttgagggcct cgcgccgaag ctggacccgg aggagatgaa acggaagatg 60
cgcgaggatg tgatctcctc catacggaaac ttctcatct acgtggccct cctgcgagtc 120
actccattta tcttaaagaa attggacagc atatga 156
```

<210> 16

<211> 573

<212> DNA

<213> H mo sapiens

<400> 16

```

atggcttcca gaggaagac agagacaagc aaattaaagc agaatttaga agaacagttg 60
gatagactca tgcaacaatt acaagatctg gaggaatgca gagaggaact tgatacagat 120
gaatatgaag aaaccaaaaa ggaaactctg gagcaactaa gtgaatttaa tgattcacta 180
aagaaaatta tgtctggaaa tatgactttg gtagatgaac taagtggaat gcagctggct 240
attcaggcag ctatcagcca ggccttttaa accccagagg tcatcagatt gtttgcaaag 300
aaacaaccag gtcagcttcg gacaaggta gcagagatgg atagagatct gatggtagga 360
aagctggaaa gagacctgta cactcaacag aaagtggaga tactaacagc tcttaggaaa 420
cttgagaga agctgactgc agatgatgag gccttcttgt cagcaaatgc aggtgctata 480
ctcagccagt ttgagaaagt ctctacagac ctgggctctg gagacaaaat tcttgctctg 540
gcaagttttg aggttgaaaa aacaaaaaaa tga

```

573

<210> 17

<211> 378

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 17

```

atgaaactgc ttaccacaaa tctgctgagc tcgcatgtgc ggggggtggg gtcccgtggc 60
ttccccctgc gcctccaggc caccgaggtc cgtatctgcc ctgtggaatt caacccaac 120
ttcgtggcgc gtatgatacc taaagtggag tggtcggcgt tcctggaggc ggccgataac 180
ttgcgtctga tccaggtgcc gaaagggccg gttgagggat atgaggagaa tgaggagttt 240
ctgaggacca tgcaccacct gctgctggag gtggaagtga tagagggcac cctgcagtgc 300
ccggaatctg gacgtatgtt ccccatcagc cgcgggatcc ccaacatgct gctgagtga 360
gaggaactg agagttga

```

378

<210> 18

<211> 354

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 18

```
atggccggag ctggaccgac catgctgcta cgagaagaga atggctgttg cagtcggcgt 60
cagagcagct ccagtgccgg ggattcggac ggagagcgcg aggactcggc ggctgagcgc 120
gcccgcacagc agctagaggc gctgctcaac aagactatgc gcattcgcat gacagatgga 180
cggacactgg tcggctgctt cctctgcact gaccgtgact gcaatgtcat cctgggctcg 240
gcgcaggagt tcctcaagcc gtcggattcc ttctctgccg gggagccccg tgtgctgggc 300
ctggccatgg taccgggaca ccacatcggt tccattgagg tgcagaggga gagtctgacc 360
gggcctccgt atctctga                                     378
```

<210> 19

<211> 531

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 19

```
atggctgccc gagggagacg ggcggagcct cagggccggg aggctccggg ccccgcgggc 60
ggtggcggtg gcgggagccg ttgggctgag tcgggatcgg ggacgtcgcc cgagagcggg 120
gacgaggagg tgtcgggcgc gggttcgagc ccggtgtcgg gcggcgtgaa cttgttcgcc 180
aacgacggca gcttcctgga gctgttcaag cggaagatgg aggaggagca gcggcagcgg 240
caggaggagc cgcccccggg tccgcagcga cccgaccagt cggccgccgc cgctggcccc 300
ggggatccga agaggaaggg cggtccgggc tccacactta gttcgtggg caaacgcaga 360
ggcggaaca aactagccct caagacggga atagtagcca agaagcagaa gacggaggat 420
gaggtattaa caagtaaagg tgacgcgtgg gccaaagtaca tggcagaagt gaaaaagtac 480
aaagctcacc agtgcggtga cgatgataaa actcggcccc tggtgaaatg a          531
```

<210> 20

<211> 159

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 20

```
atgacagaca ccgaaaatca cgactcagcc ccctccagca cctctacctg ttgcccgccg 60
atcacagccg gaatgcagct gaaagattcc ctggggcctg gttccaaccg cccactgtgg 120
actctgaggc ctctgcattt gtgggtggtc tgcctgtga 159
```

<210> 21

<211> 901

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> CDS

<222> (36)..(635)

<400> 21

```
aaaaagaaat tcccgggctc tggcttcttg gcgcg atg agg ttc cgg ttc tgt 53
                               Met Arg Phe Arg Phe Cys
                               1             5

ggt gat ctg gac tgt ccc gac tgg gtc ctg gca gaa atc agc acg ctg 101
Gly Asp Leu Asp Cys Pro Asp Trp Val Leu Ala Glu Ile Ser Thr Leu
      10             15             20

gcc aag atg tcc tct gtg aag ttg cgg ctg ctc tgc agc cag gta cta 149
```

Ala Lys Met Ser Ser Val Lys Leu Arg Leu Leu Cys Ser Gln Val Leu
 25 30 35

aag gag ctg ctg gga cag ggg att gat tat gag aag atc ctg aag ctc 197
 Lys Glu Leu Leu Gly Gln Gly Ile Asp Tyr Glu Lys Ile Leu Lys Leu
 40 45 50

acg gct gac gcc aag ttt gag tca ggc gat gtg aag gcc aca gtg gca 245
 Thr Ala Asp Ala Lys Phe Glu Ser Gly Asp Val Lys Ala Thr Val Ala
 55 60 65 70

gtg ctg agt ttc atc ctc tcc agt gcg gcc aag cac agt gtc gat ggc 293
 Val Leu Ser Phe Ile Leu Ser Ser Ala Ala Lys His Ser Val Asp Gly
 75 80 85

gaa tcc ttg tcc agt gaa ctg cag cag ctg ggg ctg ccc aaa gag cac 341
 Glu Ser Leu Ser Ser Glu Leu Gln Gln Leu Gly Leu Pro Lys Glu His
 90 95 100

gcg gcc agc ctg tgc cgc tgt tat gag gag aag caa agc ccc ttg cag 389
 Ala Ala Ser Leu Cys Arg Cys Tyr Glu Glu Lys Gln Ser Pro Leu Gln
 105 110 115

aag cac ttg cgg gtc tgc agc cta cgc atg aat agg ttg gca ggt gtg 437
 Lys His Leu Arg Val Cys Ser Leu Arg Met Asn Arg Leu Ala Gly Val
 120 125 130

ggc tgg cgg gtg gac tac acc ctg agc tcc agc ctg ctg caa tcc gtg 485
 Gly Trp Arg Val Asp Tyr Thr Leu Ser Ser Ser Leu Leu Gln Ser Val

135	140	145	150	
gaa gag ccc atg gtg cac ctg cgg ctg gag gtg gca gct gcc cca ggg				533
Glu Glu Pro Met Val His Leu Arg Leu Glu Val Ala Ala Ala Pro Gly				
	155	160	165	
acc cca gcc cag cct gtt gcc atg tcc ctc tca gca gac aag ttc cag				581
Thr Pro Ala Gln Pro Val Ala Met Ser Leu Ser Ala Asp Lys Phe Gln				
	170	175	180	
gtc ctc ctg gca gaa ctg aag cag gcc cag acc ctg atg agc tcc ctg				629
Val Leu Leu Ala Glu Leu Lys Gln Ala Gln Thr Leu Met Ser Ser Leu				
	185	190	195	
ggc tga ggagaagggt gttccaggcc tgtgtggagc cgccctgccc gtatggagtc				685
Gly				
200				
acgccctctg aactgctctt cgggaggcag ccctggttct aggatgctga ggccctggcc				745
cggactctgg cctcccagat cccagctgc ctacttctc tcttgagaac ttggctcagg				805
gctcctgagg acctttccca gcattacctt cccttcctt gaaaggcaat tgttggctgt				865
tttcataagc aggaaaaata aacagaagta taaagg				901

<210> 22

<211> 1274

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> CDS

<222> (131)..(1111)

<400> 22

acagcgcgtc gcggcagccc ccaaggaaga ccagcctgcc tctggtcggg tcctggcgcgt 60

ctgcgtttcg tgacctgtc cagtagaagg ctatttaatt ttcacaactg cttgaatttt 120

gacatacaag atg aag caa gat gcc tca aga aat gct gcc tac act gtg 169

Met Lys Gln Asp Ala Ser Arg Asn Ala Ala Tyr Thr Val

1

5

10

gat tgt gaa gat tat gtg cat gtg gta gaa ttt aat ccc ttt gag aat 217

Asp Cys Glu Asp Tyr Val His Val Val Glu Phe Asn Pro Phe Glu Asn

15

20

25

ggg gat tca gga aac cta att gca tat ggt ggc aat aat tat gtg gtc 265

Gly Asp Ser Gly Asn Leu Ile Ala Tyr Gly Gly Asn Asn Tyr Val Val

30

35

40

45

att ggc acg tgt acg ttt cag gaa gaa gaa gca gac gtt gaa ggc att 313

Ile Gly Thr Cys Thr Phe Gln Glu Glu Glu Ala Asp Val Glu Gly Ile

50

55

60

cag tat aaa aca ctt cga aca ttt cac cat gga gtc agg gtt gat ggc 361

Gln Tyr Lys Thr Leu Arg Thr Phe His His Gly Val Arg Val Asp Gly

65

70

75

ata gct tgg agc cca gag act aga ctt gat tca ttg cct cca gta atc 409

Ile Ala Trp Ser Pro Glu Thr Arg Leu Asp Ser Leu Pro Pro Val Ile

80

85

90

aaa ttt tgt act tca gct gct gat atg aaa att aga tta ttt act tca 457

Lys Phe Cys Thr Ser Ala Ala Asp Met Lys Ile Arg Leu Phe Thr Ser

95

100

105

gat ctt cag gat aaa aat gaa tat aag gtt tta gag ggc cat acc gat 505

Asp Leu Gln Asp Lys Asn Glu Tyr Lys Val Leu Glu Gly His Thr Asp

110

115

120

125

ttc att aat ggt ttg gtg ttt gat ccc aaa gaa ggc caa gaa att gca 553

Phe Ile Asn Gly Leu Val Phe Asp Pro Lys Glu Gly Gln Glu Ile Ala

130

135

140

agt gtg agt gac gat cac acc tgc agg att tgg aac ttg gaa gga gtg 601

Ser Val Ser Asp Asp His Thr Cys Arg Ile Trp Asn Leu Glu Gly Val

145

150

155

caa aca gct cat ttt gtt ctt cat tct cct ggc atg agt gtg tgc tgg 649

Gln Thr Ala His Phe Val Leu His Ser Pro Gly Met Ser Val Cys Trp

160

165

170

cat cct gag gag act ttt aag cta atg gtt gca gag aag aat gga aca 697

His Pro Glu Glu Thr Phe Lys Leu Met Val Ala Glu Lys Asn Gly Thr

175

180

185

atc cgg ttt tat gat ctt ttg gcc caa cag gct att tta tct ctt gaa 745

Ile Arg Phe Tyr Asp Leu Leu Ala Gln Gln Ala Ile Leu Ser Leu Glu

190

195

200

205

tca gaa caa gtg cca tta atg tca gca cac tgg tgc tta aaa aac acc 793

Ser Glu Gln Val Pro Leu Met Ser Ala His Trp Cys Leu Lys Asn Thr

210

215

220

ttc aaa gtt gga gcc gtt gca gga aat gat tgg tta att tgg gat att 841

Phe Lys Val Gly Ala Val Ala Gly Asn Asp Trp Leu Ile Trp Asp Ile

225

230

235

act cgg tcc agt tat cct caa aat aag aga cct gtt cac atg gat cga 889

Thr Arg Ser Ser Tyr Pro Gln Asn Lys Arg Pro Val His Met Asp Arg

240

245

250

gcc tgc tta ttc agg tgg tcc aca att agt gaa aat ctg ttt gca acc 937

Ala Cys Leu Phe Arg Trp Ser Thr Ile Ser Glu Asn Leu Phe Ala Thr

255

260

265

act ggt tat cct ggc aaa atg gca agc cag ttt caa att cat cat tta 985

Thr Gly Tyr Pro Gly Lys Met Ala Ser Gln Phe Gln Ile His His Leu

270

275

280

285

gga cac cct cag ccc atc ctc atg ggt tct gta gcc gtt gga tct gga 1033

Gly His Pro Gln Pro Ile Leu Met Gly Ser Val Ala Val Gly Ser Gly

290

295

300

ctg tcc tgg cat cga act ctc cct ctg tgt gta att gga gga gac cac 1081

Leu Ser Trp His Arg Thr Leu Pro Leu Cys Val Ile Gly Gly Asp His

305

310

315

aag ctg ttg ttt tgg gtg act gaa gta taa agtggtttct gtaccttaga 1131

Lys Leu Leu Phe Trp Val Thr Glu Val

320

325

ttcacaaact ttgtatTTTT agtacatatt ttgaagaatt tctatagtagc atatTTTgaa 1191

gaatTTTTat atcaaata cgtatactt tagaaaatgt ctcagttgct tttattaaat 1251

aaaatgttga tggTTTgaaa aat

1274

<210> 23

<211> 1000

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> CDS

<222> (33)..(185)

<400> 23

cttttcgagg taggagtcga ctctgtgag gt atg gtg ctg ggt gca gat gca 53

Met Val Leu Gly Ala Asp Ala

1

5

gtg tgg ctc tgg ata gca cct tat gga cag ttg tgt ccc caa gga agg 101

Val Trp Leu Trp Ile Ala Pro Tyr Gly Gln Leu Cys Pro Gln Gly Arg

10

15

20

atg aga ata gct act gaa gtc cta aag agc aag cct aac tca agc cat 149

Met Arg Ile Ala Thr Glu Val Leu Lys Ser Lys Pro Asn Ser Ser His

25

30

35

tgg cac aca ggc att aga cag aaa gct gga agt tga aatggtggag 195

Trp His Thr Gly Ile Arg Gln Lys Ala Gly Ser

40

45

50

tccaacttgc ctggaccagc ttaatggttc tgctcctggt aacgttttta tccatggatg 255

acttgcttgg gtaaggacat gaagacagtt cctgtcatac cttttaaaagg tacatgtttt 315

attgatgtta acgttaattg attgagctac tgttagtgat gattttaaaa ttaaagcaga 375

tgggaatctc tctgagaaag aaaatggaga ttaatcttaa actgaaacag tagttgggaa 435

atcttttaga aatccaccta ttactaccta ttggtaaagg agattaaatt tctacaggtg 495

tggagagtcg gcttgactac actgtgtgga gcaagtttta aagaagcaaa ggactcagaa 555

ttcatgattg aagaaatgca ggcagacctg ttatcctaaa ctaggtgagt cagcttttgg 615

tacatgtgat gattttcagt gtaaccaatg atgtaatgat tctgccaaat gaaatataat 675

gatatcactg taaaaccgtt ccattttgat tctgaggta ctctactaac aagcatcaca 735

catttgtatt ttgccctgat taatatgttg gcttcgcttt cagggttttt aatgaccaca 795

acaagcaagc atgcagctta ctgcttgaaa gggctcttgcc tcaccaagc tagagtgcag 855

tggcctttga agcttactac agcctcaaac ttctgggctc aagtgatcct cagcctccca 915

gtggcttttg tagactgcct gatggagtct catggcaca gaagattaaa acagtgtctc 975

caattttaat aaatttttgc aatcc 1000

<210> 24

<211> 1087

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> CDS

<222> (28)..(558)

<400> 24

agcttccggg tttcctgggc tactacg atg gcg atg agt ttc gag tgg ccg tgg 54

Met Ala Met Ser Phe Glu Trp Pro Trp

1

5

cag tat cgc ttc cca ccc ttc ttt acg tta caa ccg aat gtg gac act 102

Gln Tyr Arg Phe Pro Pro Phe Phe Thr Leu Gln Pro Asn Val Asp Thr

10	15	20	25	
cgg cag aag cag ctg gcc gcc tgg tgc tcg ctg gtc ctg tcc ttc tgc	150			
Arg Gln Lys Gln Leu Ala Ala Trp Cys Ser Leu Val Leu Ser Phe Cys				
30	35	40		
cgc ctg cac aaa cag tcc agc atg acg gtg atg gaa gct cag gag agc	198			
Arg Leu His Lys Gln Ser Ser Met Thr Val Met Glu Ala Gln Glu Ser				
45	50	55		
ccg ctc ttc aac aac gtc aag cta cag cga aag ctt cct gtg gag tcg	246			
Pro Leu Phe Asn Asn Val Lys Leu Gln Arg Lys Leu Pro Val Glu Ser				
60	65	70		
atc cag att gta tta gag gaa ctg agg aag aaa ggg aac ctc gag tgg	294			
Ile Gln Ile Val Leu Glu Glu Leu Arg Lys Lys Gly Asn Leu Glu Trp				
75	80	85		
ttg gat aag agc aag tcc agc ttc ctg atc atg tgg cgg agg cca gaa	342			
Leu Asp Lys Ser Lys Ser Ser Phe Leu Ile Met Trp Arg Arg Pro Glu				
90	95	100	105	
gaa tgg ggg aaa ctc atc tat cag tgg gtt tcc agg agt ggc cag aac	390			
Glu Trp Gly Lys Leu Ile Tyr Gln Trp Val Ser Arg Ser Gly Gln Asn				
110	115	120		
aac tcc gtc ttt acc ctg tat gaa ctg act aat ggg gaa gac aca gag	438			
Asn Ser Val Phe Thr Leu Tyr Glu Leu Thr Asn Gly Glu Asp Thr Glu				
125	130	135		

gat gag gag ttc cac ggg ctg gat gaa gcc act cta ctg cgg gct ctg 486

Asp Glu Glu Phe His Gly Leu Asp Glu Ala Thr Leu Leu Arg Ala Leu

140

145

150

cag gcc cta cag cag gag cac aag gcc gag atc atc act gtc agc gat 534

Gln Ala Leu Gln Gln Glu His Lys Ala Glu Ile Ile Thr Val Ser Asp

155

160

165

ggc cga ggc gtc aag ttc ttc tag caggacctg tctcccttta cttcttacct 588

Gly Arg Gly Val Lys Phe Phe

170

175

cccacctttc cagggtttc aaaaggagac agaccacgtg tcccccaaag actggatctg 648

tgactccacc agactcaaaa ggactccagt cctgaaggct gggacctggg gatgggtttc 708

tcacacccca tatgtctgtc ccttgatag ggtgaggctg aagcaccagg gagaaaatat 768

gtgtttcttc tcgccctacc tcctttccca tcctagactg tccttgagcc agggctctgta 828

aacctgacac tttatatgtg ttcacacatg taagtacata cacacatgcg cctgcagcac 888

atgcttctgt ctctctctcc tcccaccct ttagctgctg ttgcctccct tctcaggctg 948

gtgctggatc cticctaggg gatgggggaa gccctggctg caggcagcct tccaggcaat 1008

atgaagatag gaggcccacg ggcctggcag tgagagggtg ggccccacac cgatttatga 1068

tattaaaatc tcaactccc

1087

<210> 25

<211> 703

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> CDS

<222> (67)..(222)

<400> 25

cgggcgcgag gcggccaccg tggagagcag agcgcggcgg ctggaagctg ctaagtcaga 60

gccgcg atg ttc cgg att gag ggc ctc gcg ccg aag ctg gac ccg gag 108

Met Phe Arg Ile Glu Gly Leu Ala Pro Lys Leu Asp Pro Glu

1

5

10

gag atg aaa cgg aag atg cgc gag gat gtg atc tcc tcc ata cgg aac 156

Glu Met Lys Arg Lys Met Arg Glu Asp Val Ile Ser Ser Ile Arg Asn

15

20

25

30

ttt ctc atc tac gtg gcc ctc ctg cga gtc act cca ttt atc tta aag 204

Phe Leu Ile Tyr Val Ala Leu Leu Arg Val Thr Pro Phe Ile Leu Lys

35

40

45

aaa ttg gac agc ata tga agacaggaca tcacatatga atgcacgata

252

Lys Leu Asp Ser Ile

50

tgaagagcct gggtacagtt tcgactcctc tctgcaagtg aataggccca gaaaggtgta 312
 agagactcct tgaatggaca taaaattctg cttgttaaga acaagtttgg ctctggtaac 372
 tgaccttcaa agctaaaata taaaactatt tgggaagtat gaaacgatgt ctctgatct 432
 ggtgtaccct tatccctgtg acgtttggcc cctgacaata ctggtataat tgtaaataat 492
 gtcaaactcc gttttctagc aagtattaag ggagctgtgt ctgaaatggc actgtcttgt 552
 cagtcatttc tgtttacctt tttcttctgc ccagagtgtg ttigtgaaga gtctcttata 612
 ttatgttttg tggaaatcag cacacaacca caatgacatt taagcacagg atcattatta 672
 gtctatgttt ttaataaaca tatcaattaa g 703

<210> 26

<211> 921

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> CDS

<222> (204)..(776)

<400> 26

ctccccggc gcggtccgcc aggccagtc cctcagcatc tccaccccgga ggtggtttga 60

actttgagcc ttttgtagtc ctgatgaata atttcatttt cctcaagttt atgacactcg 120

gaacgtcaag aactggaggt ttgtgcaatt tgagaccggt cggcactgtg cagagatcag 180

agtactaaga gacagagatt aaa atg gct tcc aga gga aag aca gag aca agc 233

Met Ala Ser Arg Gly Lys Thr Glu Thr Ser

1 5 10

aaa tta aag cag aat tta gaa gaa cag ttg gat aga ctc atg caa caa 281

Lys Leu Lys Gln Asn Leu Glu Glu Gln Leu Asp Arg Leu Met Gln Gln

15 20 25

tta caa gat ctg gag gaa tgc aga gag gaa ctt gat aca gat gaa tat 329

Leu Gln Asp Leu Glu Glu Cys Arg Glu Glu Leu Asp Thr Asp Glu Tyr

30 35 40

gaa gaa acc aaa aag gaa act ctg gag caa cta agt gaa ttt aat gat 377

Glu Glu Thr Lys Lys Glu Thr Leu Glu Gln Leu Ser Glu Phe Asn Asp

45 50 55

tca cta aag aaa att atg tct gga aat atg act ttg gta gat gaa cta 425

Ser Leu Lys Lys Ile Met Ser Gly Asn Met Thr Leu Val Asp Glu Leu

60 65 70

agt gga atg cag ctg gct att cag gca gct atc agc cag gcc ttt aaa 473

Ser Gly Met Gln Leu Ala Ile Gln Ala Ala Ile Ser Gln Ala Phe Lys

75 80 85 90

acc cca gag gtc atc aga ttg ttt gca aag aaa caa cca ggt cag ctt 521
 Thr Pro Glu Val Ile Arg Leu Phe Ala Lys Lys Gln Pro Gly Gln Leu
 95 100 105

cgg aca agg tta gca gag atg gat aga gat ctg atg gta gga aag ctg 569
 Arg Thr Arg Leu Ala Glu Met Asp Arg Asp Leu Met Val Gly Lys Leu
 110 115 120

gaa aga gac ctg tac act caa cag aaa gtg gag ata cta aca gct ctt 617
 Glu Arg Asp Leu Tyr Thr Gln Gln Lys Val Glu Ile Leu Thr Ala Leu
 125 130 135

agg aaa ctt gga gag aag ctg act gca gat gat gag gcc ttc ttg tca 665
 Arg Lys Leu Gly Glu Lys Leu Thr Ala Asp Asp Glu Ala Phe Leu Ser
 140 145 150

gca aat gca ggt gct ata ctc agc cag ttt gag aaa gtc tct aca gac 713
 Ala Asn Ala Gly Ala Ile Leu Ser Gln Phe Glu Lys Val Ser Thr Asp
 155 160 165 170

ctt ggc tct gga gac aaa att ctt gct ctg gca agt ttt gag gtt gaa 761
 Leu Gly Ser Gly Asp Lys Ile Leu Ala Leu Ala Ser Phe Glu Val Glu
 175 180 185

aaa aca aaa aaa tga catggtgcag aagcttgtaa cattgatcac attcttaatg 816
 Lys Thr Lys Lys
 190

taaatggtgt ctttcttctg gggttttcag ttattgcaaa gaaatgaaga gattctggaa 876

atgcatcaat aacctaagaa aaagcgacat aaaaatatac ttatg 921

<210> 27

<211> 584

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> CDS

<222> (41)..(418)

<400> 27

ttttttccgg ttccggcctg gcgagagttt gtgcggcgac atg aaa ctg ctt acc 55

Met Lys Leu Leu Thr

1 5

cac aat ctg ctg agc tcg cat gtg cgg ggg gtg ggg tcc cgt ggc ttc 103

His Asn Leu Leu Ser Ser His Val Arg Gly Val Gly Ser Arg Gly Phe

10 15 20

ccc ctg cgc ctc cag gcc acc gag gtc cgt atc tgc cct gtg gaa ttc 151

Pro Leu Arg Leu Gln Ala Thr Glu Val Arg Ile Cys Pro Val Glu Phe

25 30 35

aac ccc aac ttc gtg gcg cgt atg ata cct aaa gtg gag tgg tcg gcg 199

Asn Pro Asn Phe Val Ala Arg Met Ile Pro Lys Val Glu Trp Ser Ala

40	45	50	
ttc ctg gag gcg gcc gat aac ttg cgt ctg atc cag gtg ccg aaa ggg			247
Phe Leu Glu Ala Ala Asp Asn Leu Arg Leu Ile Gln Val Pro Lys Gly			
55	60	65	
ccg gtt gag gga tat gag gag aat gag gag ttt ctg agg acc atg cac			295
Pro Val Glu Gly Tyr Glu Glu Asn Glu Glu Phe Leu Arg Thr Met His			
70	75	80	85
cac ctg ctg ctg gag gtg gaa gtg ata gag ggc acc ctg cag tgc ccg			343
His Leu Leu Leu Glu Val Glu Val Ile Glu Gly Thr Leu Gln Cys Pro			
90	95	100	
gaa tct gga cgt atg ttc ccc atc agc cgc ggg atc ccc aac atg ctg			391
Glu Ser Gly Arg Met Phe Pro Ile Ser Arg Gly Ile Pro Asn Met Leu			
105	110	115	
ctg agt gaa gag gaa act gag agt tga ttgtgccagg cgccagtttt			438
Leu Ser Glu Glu Glu Thr Glu Ser			
120	125		
tcttgttatg actgtgtatt ttgtttgatc tataccctgt ttccgaattc tgccgtgtgt			498
atccccaacc cttgacccaa tgacaccaaa cacagtgttt ttgagctcgg tattatatat			
			558
ttttttctca ttaaaggttt aaaacc			584

<210> 28

<211> 467

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> CDS

<222> (40)..(417)

<400> 28

tttaggaagt tgaaaggccc agaggaggcc tccgggcaa atg gcc gga gct gga 54

Met Ala Gly Ala Gly

1 5

ccg acc atg ctg cta cga gaa gag aat ggc tgt tgc agt cgg cgt cag 102

Pro Thr Met Leu Leu Arg Glu Glu Asn Gly Cys Cys Ser Arg Arg Gln

10 15 20

agc agc tcc agt gcc ggg gat tcg gac gga gag cgc gag gac tcg gcg 150

Ser Ser Ser Ser Ala Gly Asp Ser Asp Gly Glu Arg Glu Asp Ser Ala

25 30 35

gct gag cgc gcc cga cag cag cta gag gcg ctg ctc aac aag act atg 198

Ala Glu Arg Ala Arg Gln Gln Leu Glu Ala Leu Leu Asn Lys Thr Met

40 45 50

cgc att cgc atg aca gat gga cgg aca ctg gtc ggc tgc ttc ctc tgc 246

Arg Ile Arg Met Thr Asp Gly Arg Thr Leu Val Gly Cys Phe Leu Cys

55 60 65

act gac cgt gac tgc aat gtc atc ctg ggc tcg gcg cag gag ttc ctc 294

Thr Asp Arg Asp Cys Asn Val Ile Leu Gly Ser Ala Gln Glu Phe Leu

70

75

80

85

aag ccg tcg gat tcc ttc tct gcc ggg gag ccc cgt gtg ctg ggc ctg 342

Lys Pro Ser Asp Ser Phe Ser Ala Gly Glu Pro Arg Val Leu Gly Leu

90

95

100

gcc atg gta ccc gga cac cac atc gtt tcc att gag gtg cag agg gag 390

Ala Met Val Pro Gly His His Ile Val Ser Ile Glu Val Gln Arg Glu

105

110

115

agt ctg acc ggg cct ccg tat ctc tga ccacgatggc gcttaccttt 437

Ser Leu Thr Gly Pro Pro Tyr Leu

120

125

cagacttcat taaacttatg accgaatggg 467

<210> 29

<211> 875

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> CDS

<222> (25)..(555)

<400> 29

ctttgcgcgg cacctggcga caaa atg gct gcc cga ggg aga cgg gcg gag 51

Met Ala Ala Arg Gly Arg Arg Ala Glu

1

5

cct cag ggc cgg gag gct ccg ggc ccc gcg ggc ggt ggc ggt ggc ggg 99

Pro Gln Gly Arg Glu Ala Pro Gly Pro Ala Gly Gly Gly Gly Gly Gly

10

15

20

25

agc cgt tgg gct gag tcg gga tcg ggg acg tcg ccc gag agc ggg gac 147

Ser Arg Trp Ala Glu Ser Gly Ser Gly Thr Ser Pro Glu Ser Gly Asp

30

35

40

gag gag gtg tcg ggc gcg ggt tcg agc ccg gtg tcg ggc ggc gtg aac 195

Glu Glu Val Ser Gly Ala Gly Ser Ser Pro Val Ser Gly Gly Val Asn

45

50

55

ttg ttc gcc aac gac ggc agc ttc ctg gag ctg ttc aag cgg aag atg 243

Leu Phe Ala Asn Asp Gly Ser Phe Leu Glu Leu Phe Lys Arg Lys Met

60

65

70

gag gag gag cag cgg cag cgg cag gag gag ccg ccc ccg ggt ccg cag 291

Glu Glu Glu Gln Arg Gln Arg Gln Glu Glu Pro Pro Pro Gly Pro Gln

75

80

85

cga ccc gac cag tcg gcc gcc gcc gct ggc ccc ggg gat ccg aag agg 339

Arg Pro Asp Gln Ser Ala Ala Ala Ala Gly Pro Gly Asp Pro Lys Arg

90

95

100

105

aag ggc ggt ccg ggc tcc aca ctt agc ttc gtg ggc aaa cgc aga ggc 387
 Lys Gly Gly Pro Gly Ser Thr Leu Ser Phe Val Gly Lys Arg Arg Gly
 110 115 120

ggg aac aaa cta gcc ctc aag acg gga ata gta gcc aag aag cag aag 435
 Gly Asn Lys Leu Ala Leu Lys Thr Gly Ile Val Ala Lys Lys Gln Lys
 125 130 135

acg gag gat gag gta tta aca agt aaa ggt gac gcg tgg gcc aag tac 483
 Thr Glu Asp Glu Val Leu Thr Ser Lys Gly Asp Ala Trp Ala Lys Tyr
 140 145 150

atg gca gaa gtg aaa aag tac aaa gct cac cag tgc ggt gac gat gat 531
 Met Ala Glu Val Lys Lys Tyr Lys Ala His Gln Cys Gly Asp Asp Asp
 155 160 165

aaa act cgg ccc ctg gtg aaa tga cgccctccc ccacctgccc atggcctggg 585
 Lys Thr Arg Pro Leu Val Lys
 170 175

actctctgcg atgtacataa ctatttaatg cagcggcagc ggcgacagcc ttccctgaga 645

ggacttaaaa gcagaaggaa accgagatgc ttcccgagc cgtggacgat tctccaggac 705

tcttttttta ccttgagcac ttgcctcgtg agacttcata gaacagtggg ttactgtccc 765

ccccttctca cctcctcatt ctctctgget ctttctgtct tcctcttctc accctcctcc 825

ctcccccttag ccatcacttc tgggaagtaa agaacttgac ttagtgccgg 875

<210> 30

<211> 470

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> CDS

<222> (216)..(374)

<400> 30

cttagtcgtg tgtacatcat tgggaatgga gggaaataaa tgactggatg gtcgctgctt 60

ttaaagtttc aaattgacat tccagacaag cggatgcctga gcccgtgcct gtcttcagat 120

cttcacagca cagttcctgg gaaggtggag ccaccagcct ctcccttgaat aactgggaga 180

tgaaacagga agctctatga cacacttgat cgaat atg aca gac acc gaa aat 233

Met Thr Asp Thr Glu Asn

1

5

cac gac tca gcc ccc tcc agc acc tct acc tgt tgc ccg ccg atc aca 281

His Asp Ser Ala Pro Ser Ser Thr Ser Thr Cys Cys Pro Pro Ile Thr

10

15

20

gcc gga atg cag ctg aaa gat tcc ctg ggg cct ggt tcc aac cgc cca 329

Ala Gly Met Gln Leu Lys Asp Ser Leu Gly Pro Gly Ser Asn Arg Pro

25

30

35

ctg tgg act ctg agg cct ctg cat ttg tgg gtg gtc tgc ctg tga 374

Leu Trp Thr Leu Arg Pro Leu His Leu Trp Val Val Cys Leu

40

45

50

tattttgggc atgggctggt ctggtcggtt tccatttgt ctggccagtc tctatgtgtc 434

ttaatccctt gtccttcatt aaaagcaaaa ctaaag 470

【図面の簡単な説明】

【図 1】

蛋白質HP 1 0 1 4 9 のアミノ酸配列と線虫仮想蛋白質W 0 2 A 1 1 . 2 のアミノ酸配列を比較した図である。

【図 2】

蛋白質HP 1 0 1 6 0 のアミノ酸配列と線虫仮想蛋白質Z K 1 2 4 8 . 1 5 のアミノ酸配列を比較した図である。

【図 3】

蛋白質HP 1 0 1 7 3 のアミノ酸配列と線虫仮想蛋白質C 0 4 H 5 . 1 のアミノ酸配列を比較した図である。

【書類名】

図面

【図 1】

HP10149	1'	NAMSFETWQYRFPFFFTLQPNVDTRQQLAANCBLVLSFCRLHKQSSMTVMEA *.*****.***.* * * * *
W02A11	1"	MAAAATTASAFKWPWQYDFPFFTIQKSLNTKQKLEAWARLVIDYAQHKNKIYSLDIAEA
HP10149	55'	QESPLFNNVKLQRKLPVESIQIVLEELRKKGNLEWLDKSKSFLIMWRRPFEWGLIYQW * **** *.** * * * * *.** * * * * *
W02A11	61"	TTSELFNNQKLNRRRLSTDGVNTVLQYLEQKKLIEFTDNGRTRFHIFWRRPVDVWANNIYQW
HP10149	115'	VSRGQNNSVFTLYELTNGEDTDEEFHGLDEATLILRALQALQEHKAEIITV-SDGRGV . . . * . *****.** * * * * *.* * * * *
W02A11	121"	AVENAFINTPLTLYEITHGDDFTNESFHNLEREILMKALTCLFQORRAQLMNI GGDNEG
HP10149	174'	KFF **.
W02A11	181"	KFI

【図 3】

[illegible]

【書類名】 要約書

【要約】

【課題】 精製ヒト蛋白質、この蛋白質をコードしている完全長 c DNA を含む DNA 断片、この DNA 断片の発現ベクター、この発現ベクターによる形質転換細胞およびこの蛋白質に対する抗体を提供する。

【解決手段】 配列番号 1 から 1 0 のいずれかのアミノ酸配列を有する精製ヒト蛋白質、配列番号 1 1 から 2 0 のいずれかの塩基配列を有する DNA 断片、この DNA 断片の発現ベクター、この発現ベクターによる形質転換細胞、およびこの蛋白質に対する抗体。

【選択図】 なし

出 願 人 履 歴 情 報

識別番号 [396020800]

1. 変更年月日	1998年 2月24日
[変更理由]	名称変更
住 所	埼玉県川口市本町4丁目1番8号
氏 名	科学技術振興事業団